

Obsah:

5. B lymfocyty a specifická látková imunita

5.1 Protilátky (imunoglobuliny, Ig)

5.2 Receptor B lymfocytů (BCR) a další signalizační molekuly

5.3 Subpopulace a vývoj B lymfocytů

5.4 Aktivace B lymfocytů

5.4.1 Obecné kroky stimulace B lymfocytů

5.4.2 Aktivace B lymfocytu volným antigenem a produkce nízko afinitních Ig na T lymfocytech nezávislých

5.4.2 Aktivace B lymfocytu za účasti T_h lymfocytů a produkce vysoko afinitních Ig na T lymfocytech nezávislých

Pracovní texty

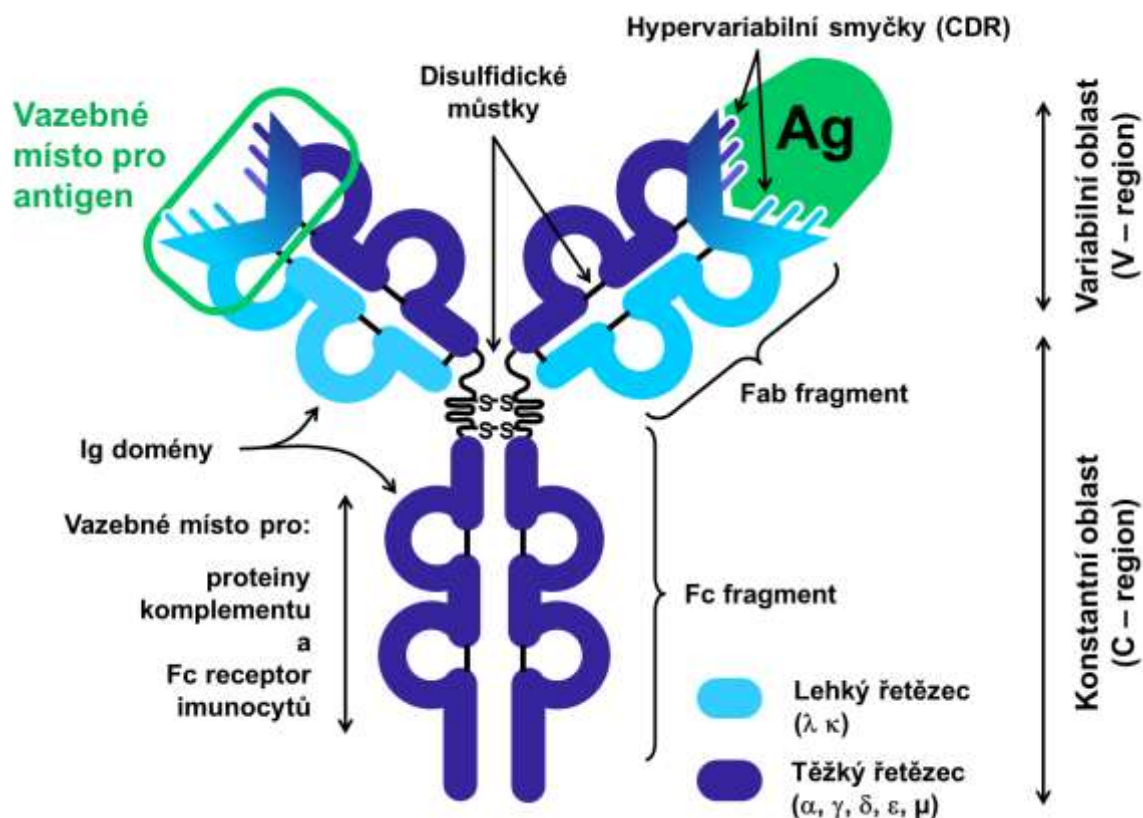
5. B lymfocyty a specifická látková imunita

B lymfocyty¹, bílé krvinky morfologicky řazené k agranulocytům, jsou představiteli specifické látkové (humorální) imunity. Primární funkcí B lymfocytů je **produkce protilátek**, které jsou sekretovány do tělních tekutin jako reakce na setkání B lymfocytu s antigenem. B lymfocyty rozpoznávají antigeny zpravidla mikrobiálního původu a to prostřednictvím svého vysoce **polymorfního membránového receptoru (BCR²)**. Antigeny mohou být jak volné, rozpuštěné, tak vázané na povrchu imunocytů. Typ antigenu určuje charakter protilátkové reakce aktivovaného B lymfocytu:

- **Polysacharidy, lipidy, ssRNA** (aj. nepeptidové antigeny) stimulují B lymfocyty k produkci nízko afinitních IgM protilátek.
- **Peptidové antigeny** stimulují B lymfocyty k produkci vysoce afinitních protilátek IgG, IgA a IgE, jejichž sekrece vyžaduje navíc spolupráci B lymfocytů s pomocnými T_h lymfocyty.

5.1. Protilátky (imunoglobuliny, Ig)

Protilátky produkované B lymfocyty jsou velké globulární molekuly glykoproteinů³. Funkcí protilátek je rozpoznání extracelulárního antigenu a jeho eliminace. Molekula protilátky obsahuje 4 peptidové řetězce: dva delší identické **těžké řetězce** a dva kratší identické **lehké řetězce**. Polypeptidové řetězce jsou navzájem spojené disulfidickými můstky a v prostoru zaujímají tvar připomínající písmeno „Y“ (obr. 5.1)



Obr. 5.1. Struktura molekuly protilátky (imunoglobulinu Ig)

¹ název odvozen od Bursa Fabricii, imunitního orgánu ptáků, kde byly B lymfocyty poprvé objeveny

² B-cell Receptor = membránově vázaný glykoprotein (imunoglobulin)

³ na některé aminokyseliny jsou vázány molekuly cukrů

Z hlediska variability rozlišujeme na molekule imunoglobulinu:

- **Variabilní oblast** (N-region) je místo vazby Ig s antigenem. Součástí variabilní oblasti jsou krátké sekvence AMK, tvořící malé smyčky. Na lehkém i těžkém řetězci jsou tři takové smyčky, jež jsou v bezprostředním kontaktu s Ag; proto jsou označovány jako „complementarity-determining region“ (CDR). Tyto smyčky vykazují největší variabilitu, proto jsou také označovány jako hypervariabilní oblasti (smyčky). Sekvence aminokyselin ve variabilní oblasti je kódována specifickou skupinou genů, které při replikaci procházejí řadou dalších modifikací, čímž je docílena výsledná extrémní variabilita. (více viz kap. **Imunogenetika**).
- **Konstantní oblast** (C-region) představuje větší část molekuly Ig s relativně nízkou variabilitou. Struktura konstantní oblasti determinuje izotyp protilátky (např. IgM, IgG, IgA atd – viz dále) a tím funkční specializaci.

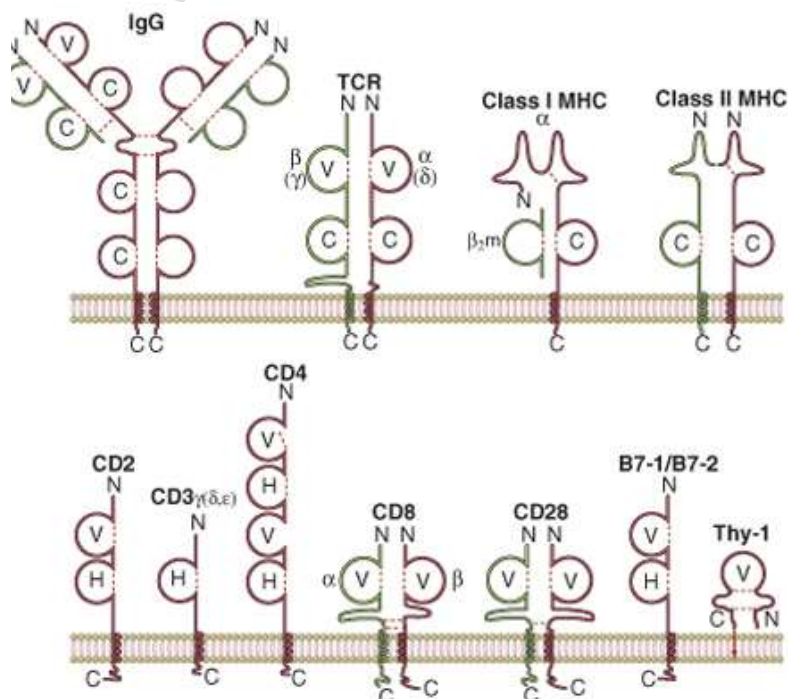
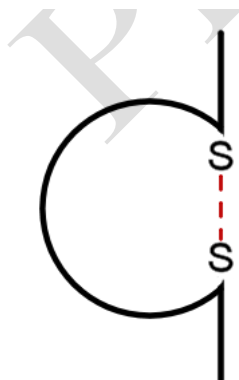
Při působení proteolytických enzymů se Ig štěpí na dva funkční fragmenty:

- **Fab fragment** (Fragment antigen binding), který je tvořen celým lehkým řetězcem (jeho konstantní i variabilní oblastí) a částí těžkého řetězce (jeho konstantní i variabilní oblastí); na Fab fragmentu leží vlastní vysoce variabilní vazebné místo pro antigen.
- **Fc fragment** ((Fragment crystalline), který obsahuje jen konstantní oblasti páru těžkých řetězců; na Fc fragmentu leží vazebné místo pro proteiny komplementu a pro Fc receptory různých imunocytů (makrofágů, mastocytů, neutrofilů atd.)

Vedle vysoce variabilního vazebného místa jsou polypeptidové řetězce imunoglobulinů tvořeny relativně konzervovanými strukturálními podjednotkami, tzv. **Ig doménami**. Jsou tvořeny řetězcem cca 70-110 AMK uspořádaného do sekundární struktury β skládaného listu⁴. Dva proti sobě orientované β skládané listy pak společně v prostoru tvoří globulární útvar, označovaný jako β barel. Ig domény jsou fylogeneticky konzervované oblasti poprvé definované u imunoglobulinů, ale nacházející se také u řady dalších molekul (**obr. 5.2**).

Obr. 5.2. Ig doména

Globulární struktura Ig domény tvořena dvěma proti sobě orientovanými β skládanými listy, které jsou vázány především disulfidickými můstky cystein (a). Ukázky Ig domén u některých imunitních molekul (b)



⁴ podle místa výskytu rozlišujeme více variant Ig domén

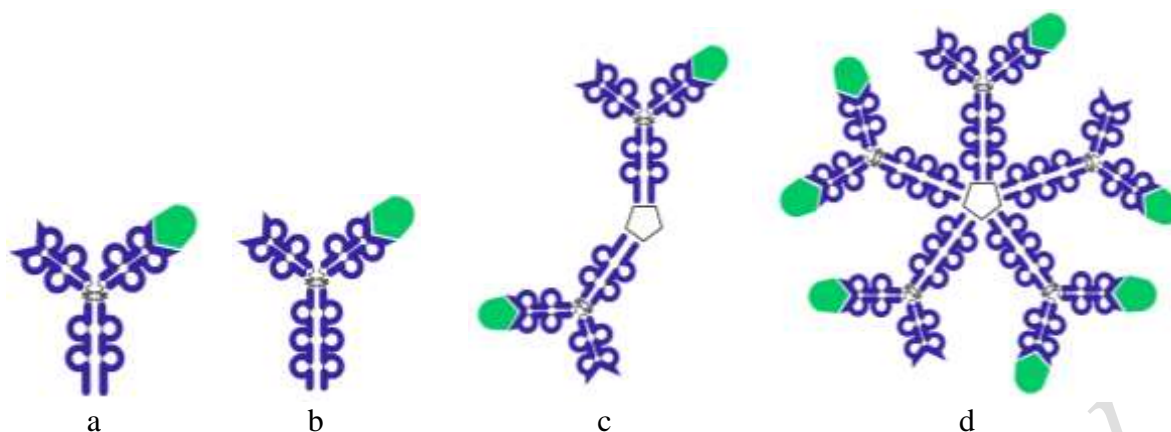
Funkcí protilátek je specifická vazba na antigen. Protilátky samy nejsou zpravidla schopny infekční částici přímo zničit, ale „označí“ ji jako cíl ostatním obranným systémům. Vazbou na antigen protilátka cizorodou částici „obalí“ – proces tzv. **opsonizace** - a tím ji učiní „viditelnější“ především pro makrofágy, které jsou stimulovány k fagocytóze daného komplexu. Komplex antigen-protilátka navíc aktivuje proteiny komplementu, účastníci se na zánětlivých procesech vrozené nespecifické imunity.

Imunoglobuliny se v organismu vyskytují ve dvou základních fyzikálních formách:

- **Ig vázané na membránu B lymfocytů** – jedná se o izotypy IgD a IgM, které představují tzv. B lymfocytární receptor pro antigen (označ. jako BCR, **B-cell receptor**)
- **Ig sekretované do tělních tekutin** (krev, lymfa, tkáňový mok, mateřské mléko aj.)

Z funkčního i strukturního hlediska rozeznáváme **pět základních tříd (izotypů)** lidských imunoglobulinů: IgG, IgA, IgM, IgD a IgE (obr. 5.3). U jednotlivých imunoglobulinů rozlišujeme další podtřídy (např. IgA1, IgA2, IgG1 - IgG4). Základem všech izotypů je monomerní „Y“ jednotka. Jednotlivé izotypy se liší počtem monomerních jednotek, typem těžkého řetězce (α , γ , δ , ϵ , μ), počtem Ig domén, počtem cystidinových můstků aj. Tyto strukturní rozdíly jsou základem odlišných biologických vlastností.

- **IgM**: Jako monomer se vyskytují *na povrchu nezralých i zralých B lymfocytů* všech populací, kde fungují jako **receptor pro antigen**. Těžký řetězec IgM je tvořen řetězcem μ . Jsou uvolňované spontánně jako přirozené, nízko afinitní protilátky (první izotyp, tvořící se po setkání B lymfocytu s Ag). *V séru* se vyskytují ve **formě pentametu**. Váží se na mikrobiální peptidové i nepeptidové antigeny a aktivují proteiny komplementu. Poločas rozpadu je cca 6 dní.
- **IgD**: Vyskytují se jako monomery *vázané na povrchu folikulárních B2 lymfocytů* (nejpočetnější subpopulace B lymfocytů -viz dále). Těžký řetězec je typu δ . Membránový IgD představuje antigenní receptor naivních B lymfocytů.
- **IgG**: Vysoce **afinitní protilátky**, jejichž sekrece je aktivovaná T_H2 lymfocyty (za přítomnosti IFN- γ). Jedná se o **nejpočetnější** cirkulující protilátky (70-75%). Vyskytuje se jako **monomer v séru** a intersticiální tekutině. Rozlišujeme čtyři základní podtřídy IgG protilátek: IgG1- IgG4, které se liší typem těžkého řetězce ($\gamma 1 - \gamma 4$). IgG se váží na peptidové antigeny, opsonizací je neutralizují a tím také aktivují proteiny komplementu (vazba na C1 protein komplementu). Prostupují i přes placentu. Poločas rozpadu IgG je cca 21 dní.
- **IgA**: Vysoce **afinitní protilátky** produkované plazmatickými B lymfocyty *ve sliznicích*. Sekrece je aktivovaná T_H2 lymfocyty za přítomnosti TGF- β a dalších cytokinů. IgA se vyskytují ve dvou formách - slizniční (dimer) spojený J-řetězcem a serózní (mono-, di-, trimer). V dýchací a trávicí sliznici tvoří více než polovinu denní produkce protilátek (v krvi tvoří jen $\frac{1}{4}$ protilátek). Prostupují přes epitelální buňky transcytózou (za pomoci poly-Ig receptoru). Chrání sliznice opsonizací a neutralizací antigenu. Kromě sliznic se vyskytují v séru, slzách, slinách, mateřském mléku atd. Existují dvě základní podtřídy (IgA1, IgA2); u obou má těžký řetězec formu α . Poločas rozpadu IgA je cca 2 dny.
- **IgE**: Vysoce afinitní protilátky, jejichž sekrece je aktivovaná T_H2 lymfocyty v přítomnosti IL-4. Jako monomer cirkuluje IgE v krvi; **váže se na Fc receptor mastocytů** a bazofilů. Podílí se na ochraně proti mnohobuněčným parazitům (červi). Hrají také **roli při rozvoji hypersensitivity** proti neinfekčním částicím (atopický ekzém) – obr. 4.x – Degranulace mastocytu.



Obr. 5.3. Třídy (izotypy) imunoglobulinů:

Monomer se 2 páry Ig domény v konstantní oblasti :IgG, IgD (a), : monomer se 3 páry Ig domény v konstantní oblasti :IgE (b), dimer:IgA (c), pentamer:IgM (d)

5.2. Receptor B lymfocytů (BCR) a další signalizační molekuly

Sekretovaná forma nízko afinitních imunoglobulinů se od formy vázané na membránu B lymfocytu liší pouze malou vazebnou doménou v konstantní oblasti páru těžkých řetězců Ig⁵. Tato doména (tvořena řádově jen několika desítkami AMK) umožňuje u vázané formy imunoglobulinu vazbu Ig na membránu B lymfocytu a u sekretovaných forem vazbu monomerních jednotek do di- resp. pentameru. **Variabilní oblast sekretované formy Ig je však kopií variabilní oblasti membránově vázané formy imunoglobulinu**, která je součástí receptoru konkrétního aktivovaného B lymfocytu (BCR), jež jako odpověď na stimulaci antigenem protilátky sekretuje. Tato skutečnost je zárukou, že **protilátky sekretované jako odpověď na vazbu B lymfocytárního receptoru s antigenem, se budou specificky vázat na tentýž antigen, který jejich sekreci aktivoval**. Kromě specifického receptoru BCR je na povrchu B lymfocytů exprimována řada dalších receptorových a koreceptorových proteinů (obr. 5.4.):

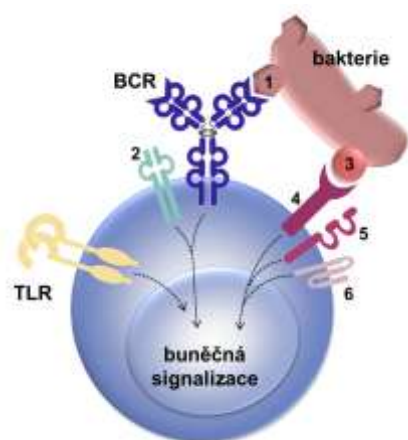
- **BCR - specifický receptor zralých B lymfocytů.** Zajišťuje vazbu s mikrobiálním antigenem a přenos signálu do buňky. Membránový komplex je tvořený ze dvou částí:
 - **Imunoglobulin (IgM, IgD)** vázaný na membránu B lymfocytu a zodpovědný za rozpoznání a vazbu antigenu
 - **Asociované proteiny Igα (CD97α) a Igβ (CD97β)**, které jsou nekovalentně vázány k receptorovému Ig. Tyto asociované proteiny zajišťují přenos a zesílení signálu z receptoru do buňky
- **CR2 – nespecifický komplementový receptor (CD21).** Zajišťuje vazbu s komplementovým proteinem navázaným na mikrobiální antigen (bakterii). Receptor je funkčně propojen s dalšími dvěma složkami:
 - **CD19 – koreceptor komplementového receptoru** – zvyšuje reakční citlivost komplementového proteinu
 - **CD81 (TAPA-1)** – spolu s CD19 je součástí signální dráhy komplementového receptoru

⁵ Vysoce afinitní protilátky (závislé na T lymfocytech) se mohou od původního receptoru mírně lišit. Tyto modifikace vznikající v procesech izotypového přesmyku (modifikuje C region) a somatické hypermutace (modifikuje V region) však nemění antigenní specifitu, ale naopak zvyšují afinitu nově vznikajících protilátek k původnímu stimulačnímu antigenu – viz dále

- **TLRs** – (tool like receptors) – povrchové **nespecifické receptory** pro bakteriální antigeny (PAMPs) – **více kap. Nespecifická imunita.**

Kromě *detekce Ag* pomocí receptorových komplexů mají B lymfocyty také molekuly, účastníci se *prezentace Ag* pomocným T_h lymfocytům (**obr. 5.5**). Proces prezentace Ag se uplatňuje při iniciaci produkce protilátek závislých na T_h lymfocytech. K nejvýznamnějším molekulám účastnícím se prezentace antigenu patří:

- **MHCII** – glykoproteiny účastníci se **prezentace antigenu pomocným T_h lymfocytům** v procesu iniciace produkce Ig na T lymfocytech závislých (viz dále). K tomu, aby stimulace T_h lymfocytu proběhla úspěšně, jsou kromě MHCII nutné další koreceptorové signály:
- **B7** – membránový protein⁶ poskytující **stimulační koreceptorový signál**⁷ při prezentaci antigenu T_h lymfocytů. B7 se vyskytuje nejen u B lymfocytů, ale u všech profesionálních antigen prezentujících buněk. U B lymfocytů, které prezentují pomocným T lymfocytům antigen, pomáhá stimulovat sekreci vysoce afinitních protilátek na T lymfocytech závislých.
- **CD40** – další membránový protein poskytující **inhibiční koreceptorový signál**⁸ při prezentaci antigenu T_h lymfocytům. (CD40 se opět vyskytuje nejen u B lymfocytů ale u všech antigen prezentujících buněk).
- **CD 20** – membránový protein *typický pro všechna stádia B lymfocytů* (je proto využíván k detekci resp. separaci B lymfocytů od ostatních buněčných populací). Funkce CD20 není jednoznačně známá. Předpokládá se, že jde o Ca²⁺ kanál a optimalizuje interakci s T lymfocyty při stimulaci Ig na T lymfocytech závislých (viz dále).

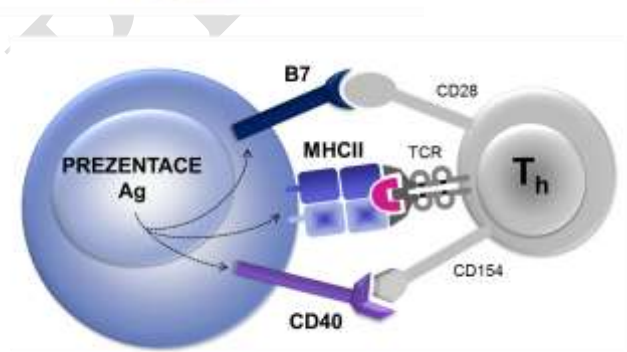


Obr. 5.4. Povrchové receptorové proteiny B lymfocytů.

Specifický receptor B lymfocytu je komplexem tří proteinů: Imunoglobulin tvaru „Y“ (BCR) je zodpovědný za vazbu s antigenem (1). Asociované proteiny Iga a Igβ (2) přenáší a zesilují signál z BCR. Signalizace z BCR je podporována také signálem z TLR (detekce mikrobiálních PAMPs).

Nespecifický komplementový receptor CR2(4) se váže na protein komplementu (3) navázaný na bakteriálním povrchu. Součástí signální dráhy z CR2 je koreceptorový protein CD19 (5) a protein CD81 (6).

B lymfocyt obsahuje řadu další signalizačních membránových proteinů, které nejsou na obrázku znázorněny.



Obr. 5.5. Povrchové proteiny B lymfocytů účastníci se prezentace antigenu.

MHCII glykoprotein váže fragment pohlčeného Ag (na obr. růžový) a prezentuje ho receptoru T_h lymfocytu (TCR). Součástí úspěšné stimulace je koreceptorový protein B7 (váže se s CD28 T_h lymfocytu) a koreceptorový protein CD40 (váže se s CD154 na T_h lymfocytu).

⁶ Vyskytuje se ve dvou formách: B7-1 (CD80) a B7-2 (CD86)

⁷ Ligandem pro B7 je protein CD28 nebo CD152 (=CTLA-4) na povrchu T_h lymfocytů

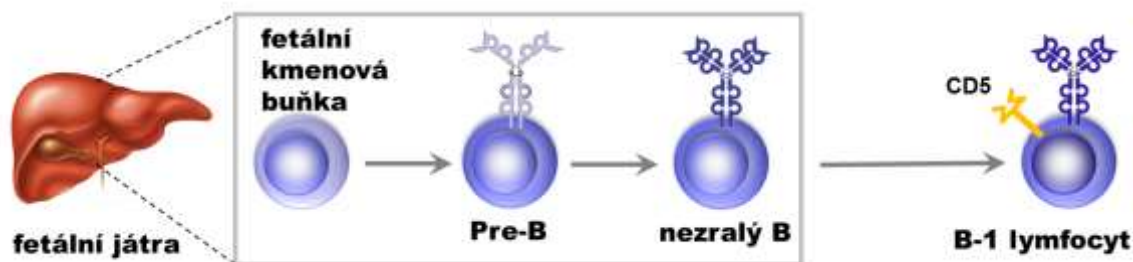
⁸ Ligandem pro CD40 je CD154 (CD40L) na povrchu T_h lymfocytů

5.3. Subpopulace a vývoj B lymfocytů

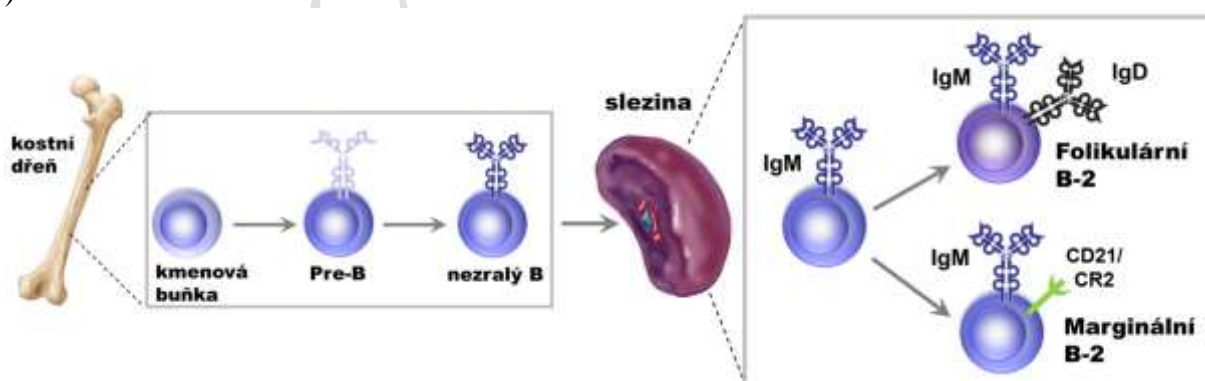
V prenatálním vývoji jsou alternativní místem tvorby B lymfocytů játra. Po narození se tvoří B-lymfocyty v kostní dřeni; ve slezině a lymfatických uzlinách pak dochází k modifikacím jejich receptorů. V závislosti na tom, v jaké fázi ontogenetického vývoje a ve kterých orgánech B lymfocyty vznikají a dozrávají, rozlišujeme dvě hlavní subpopulace B lymfocytů:

- **B1- lymfocyty rané fáze ontogenetického vývoje.** Vznikají ve fetálních játrech plodu z jaterní hemopoetické kmenové buňky (FL HSC⁹). Jejich sebeobnova probíhá i na periférii. Tvoří malý podíl všech B lymfocytů. Jejich receptory se vyznačují menší variabilitou. Produkují spontánně přirozené IgM protilátky, které rozpoznávají běžné mikrobiální antigeny (hl. mukopolysacharidy). Vyskytují se především na sliznicích (respirační, trávicí) a jsou zdrojem také IgA protilátek. Vzhledem k tomu, že B1 netvoří paměťové buňky, tak nejsou považovány za klasické adaptivní lymfocyty (obr. 5.6a).
- **B2 - klasické lymfocyty postnatálního vývoje,** vznikající v kostní dřeni z hemopoetické kmenové buňky (BM HSC¹⁰). Nezralé leukocyty uvolněné z kostní dřene exprimují jen IgM receptor. Dále cestují do sleziny, kde se diferencují do dvou subpopulací (obr. 5.6b):
 - *folikulární B lymfocyty:* představují hlavní skupinu cirkulujících B lymfocytů. Na svém povrchu exprimují jak IgM tak IgD; Jsou zdrojem vysoce afinitních protilátek IgG, IgA a IgE.
 - *marginální B lymfocyty:* představují minoritní skupinu B lymfocytů; zůstávají ve slezině, kde produkují spontánně IgM protilátky.

a)



b)



Obr. 5.6 Vývoj B lymfocytů

a) V prenatálním vývoji vznikají B1 lymfocyty v játrech. Exprimují IgM receptor a produkují přirozené IgM protilátky. b) Postnatálně vznikají B-2 lymfocyty v kostní dřeni, odkud jsou transportovány do sleziny. Tam diferencují na minoritní skupinu marginálních B lymfocytů (produkujících jen přirozené IgM protilátky bez nutnosti stimulace antigenem). Větší část diferencuje na hlavní skupinu folikulárních B lymfocytů, které na svém povrchu primují IgM, a IgD.

⁹ Fetal Liver Hemopoetic Stem Cell

¹⁰ Bone Marrow Hemopoetic Stem Cell

5.4 Aktivace B lymfocytů

5.4.1. Obecné kroky stimulace B lymfocytů

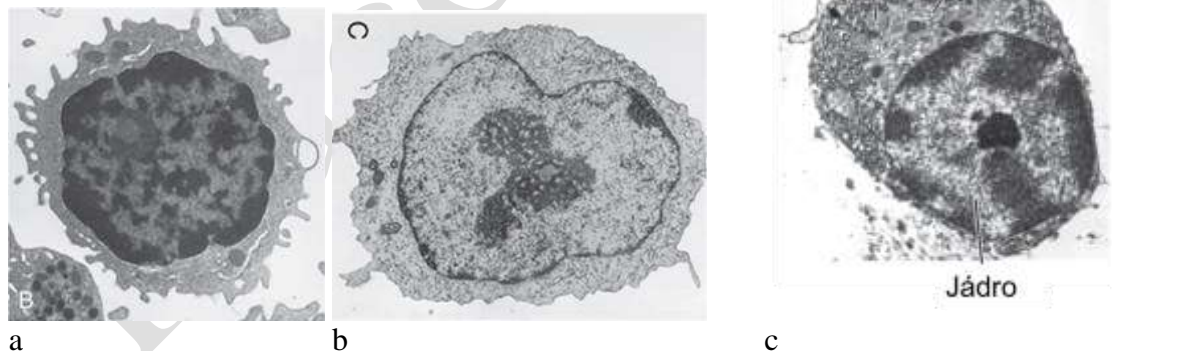
Z lymfoidního progenitoru (multipotentní¹¹ kmenová buňka) vznikají v *kostní dřeni* resp. *fetálních játrech* nejprve **pre-B-lymfocyty**¹² a následně **nezralé B lymfocyty**¹³. Tyto B-2 resp. B-1 lymfocyty exprimují na svém povrchu jen IgM receptor a spontánně produkují nízko afinitní IgM protilátky.

Nezralé B lymfocyty jsou krví přes otevřené arterioly transportovány do červené *dřeně sleziny*. Odtud putují do bílé dřeně, kde diferencují na (1) **marginální B lymfocyty** (minoritní skupina, která zůstává ve slezině) a (2) **folikulární B lymfocyty**, které představují hlavní skupinu cirkulujících B lymfocytů a exprimují kromě IgM také IgD. Tyto zralé naivní B lymfocyty jsou připraveny k setkání s antigenem. Vazba antigenu na BCR zralého lymfocytu vede k jeho aktivaci a spouští kaskádu reakcí, které vyústí v sekreci protilátek. (Pokud se antigen váže na BCR nezralého B lymfocytu vede to k jeho apoptóze. Vazba antigenu na BCR anergního¹⁴ B lymfocytu zůstává bez odpovědi).

Při vazbě komplementárního antigenu na membránový receptor dochází ke stimulaci BCR a lymfocyt se začne dělit (proliferovat) za vzniku větších buněk tzv. **lymfoblastů** (obr. 5.7b). Větší část lymfoblastů diferencuje do velkých efektorových **plazmatických buněk** (obr. 5.7c), které mají životnost jen několik dní. Během toho produkují velké množství protilátek, specifické k antigenu, který jejich sekreci stimuloval. Menší část lymfoblastů diferencuje na **paměťové buňky** (menší klidová stádia s dlouhou životností). Ty jsou připraveny při opakované infekci zasáhnout mnohem rychleji a masivněji než při prvním kontaktu s příslušným antigenem. Mluvíme o tzv. imunizaci organismu proti určitému antigenu.

Obr. 5.7. Funkční stádia B lymfocytu

Zralý naivní B lymfocyt (a), aktivovaný lymfoblast (b), efektorová plazmatická buňka se zvětšeným endoplazmatickým retikulem produkujícím protilátky



Při každém dělení B lymfocytu se úseky genů, kódujících variabilní oblasti BCR různě kombinují v procesu zvaném **přeskupování genových segmentů**. Procesy, které se uplatňují při úpravách a kombinacích genových segmentů jsou zdrojem obrovské diversity variabilní

¹¹ Multipotence = schopnost produkovat více typů příbuzných buněk; z lymfoidního progenitoru vznikají kromě B a T lymfocytů také NK buňky

¹² exprimují pouze těžký řetězec BCR

¹³ mají kompletní BCR s těžkým i lehkým řetězcem, který ale zatím neprošel testováním s vlastními antigeny

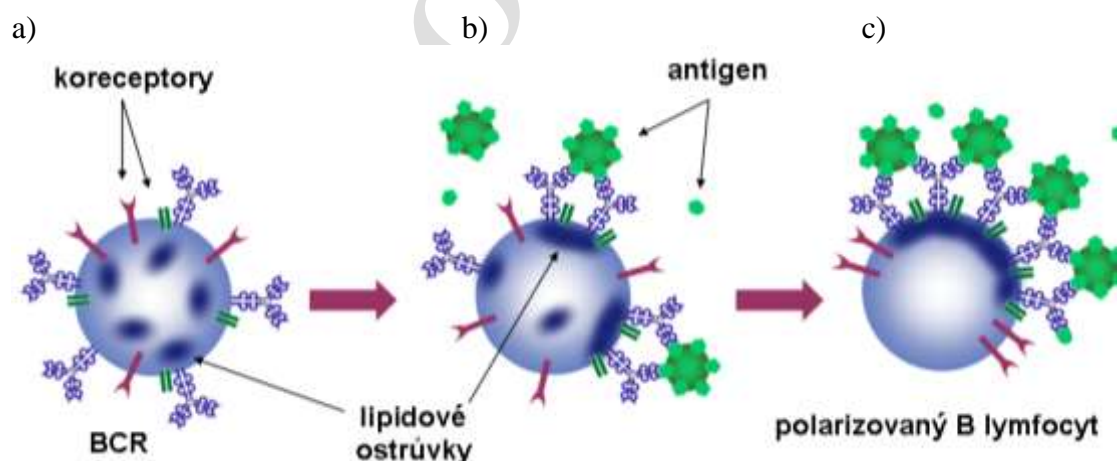
¹⁴ anergní=nedostatečně stimulovaný; u lymfocytů bývá nedostatečná stimulace způsobena chybějícími kostimulačními signály

oblasti BCR (podrobněji v kap. Imunogenetika). Každý nově vzniklý B lymfocyt má vlastní a jedinečnou variantu receptoru, který svojí stavbou odpovídá imunoglobulinu třídy D, ukotveného na povrchu membrány B lymfocytu a fungujícího jako unikátní receptor pro antigen. Protože proces přeskupování genových segmentů je zcela náhodný, je třeba (ještě před uvolněním do periferie) eliminovat potencionálně autoreaktivní nebo naopak nefunkční B lymfocyty. To se děje v procesu zvaném **pozitivní a negativní klonální selekce**, kdy jsou nezralé B lymfocyty testovány s vlastními antigeny. Autoreaktivní popř. nefunkční klony podléhají řízené buněčné smrti (apoptóza). Podobným procesem procházejí T-lymfocyty v brzlíku. B lymfocyty, které exprimují funkčně prověřený BCR typu IgD, nazýváme jako **zralé naivní B lymfocyty** (dosud se neseťkaly s antigenem) - obr. 5.7a. Ty jsou krví transportovány do lymfatických uzlin a slizniční tkáně, kde je vysoká šance na setkání s antigenem.

Zralé, ale naivní B-lymfocyty mohou být k tvorbě protilátek aktivovány, jednak volnými antigeny na T lymfocytech nezávislými (TI, T lymfocyt – Independent) a jednak za účasti pomocných T_h lymfocytů antigeny na T lymfocytech závislými. K první skupině antigenů patří především bakteriální lipopolysacharidy (LPS) a některé polymery sacharidů a proteinů. T-nezávislé antigeny stimulují přímo B lymfocyty k sekreci nízko afinitních protilátek třídy IgM.

5.4.2. Stimulace B lymfocytu volným antigenem a sekrece nízko afinitních Ig „na T lymfocytech nezávislých“

U zralého lymfocytu způsobí aktivace BCR volným antigenem nejprve **oligomerizaci několika BCR** a poté upevnění vazby dalšími koreceptory. Molekuly a receptory účastníci se stejného procesu se membránou přemístí k sobě a soustředí se do tzv. lipidových ostrůvků (lipid rafts). V ostrůvcích lipidů vzniká vnitrobuněčný signál směrem k cytoskeletu, dochází ke shlukování lipidových ostrůvků k sobě a vytváření pólů na povrchu B lymfocytu tzv. polarizace Obr. 5.8a, b

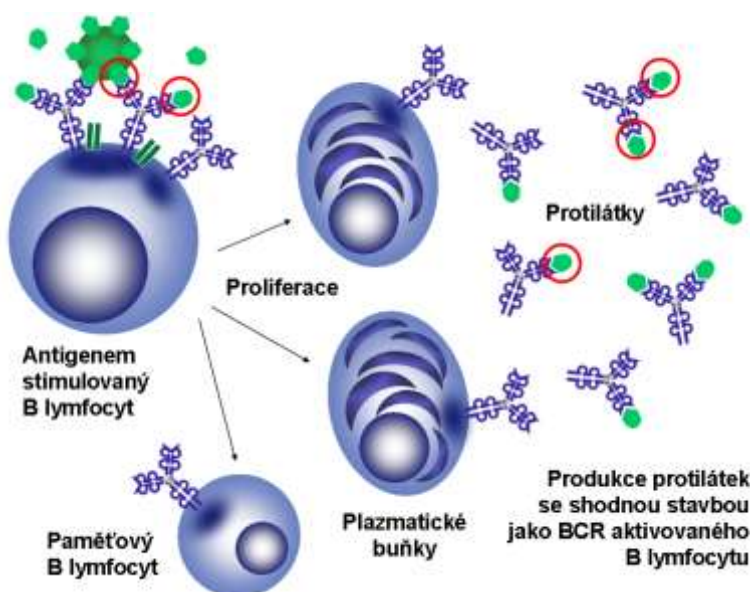


Obr. 5.8: Polarizace zralého B-lymfocytu po setkání s antigenem:

a) Naivní zralý B-lymfocyt; b) Oligomerizace BCR, zvětšování lipidových ostrůvků a jejich migrace; c) Polarizovaný B-lymfocyt.

Polarizovaný B lymfocyt proliferuje (dělí se), a následně produkuje **efektorové plazmatické buňky**. Tyto efektorové buňky žijí jen několik dní a jsou specializované k intenzivní produkci protilátek, na T lymfocytech nezávislých. Protilátky mají afinitu k antigenu, který stimuloval jejich produkci. **BCR a protilátka se v základních morfologických rysech shodují**. Shoda

především ve variabilní oblasti obou molekul zajišťuje schopnost dané protilátky vázat se na stimulující antigen a tím ho „zviditelnit“ ostatním imunocytem, které ho pak mohou účinněji eliminovat (obr. 5.9.)



Obr. 5.9: *Obecný princip stimulace B lymfocytu volným antigenem.*

Vazbou BCR a antigenem je aktivovaná proliferace, vznik paměťových buněk, plazmatických buněk a sekrece T-nezávislých protilátek (Ig) komplementárních s antigenem. Variabilní oblast BCR a Ig je totožná a specificky proto váže stejný antigen (v červeném kruhu). BCR a Ig se od sebe liší jen doménou, která ukotvuje BCR do membrány B lymfocytu.

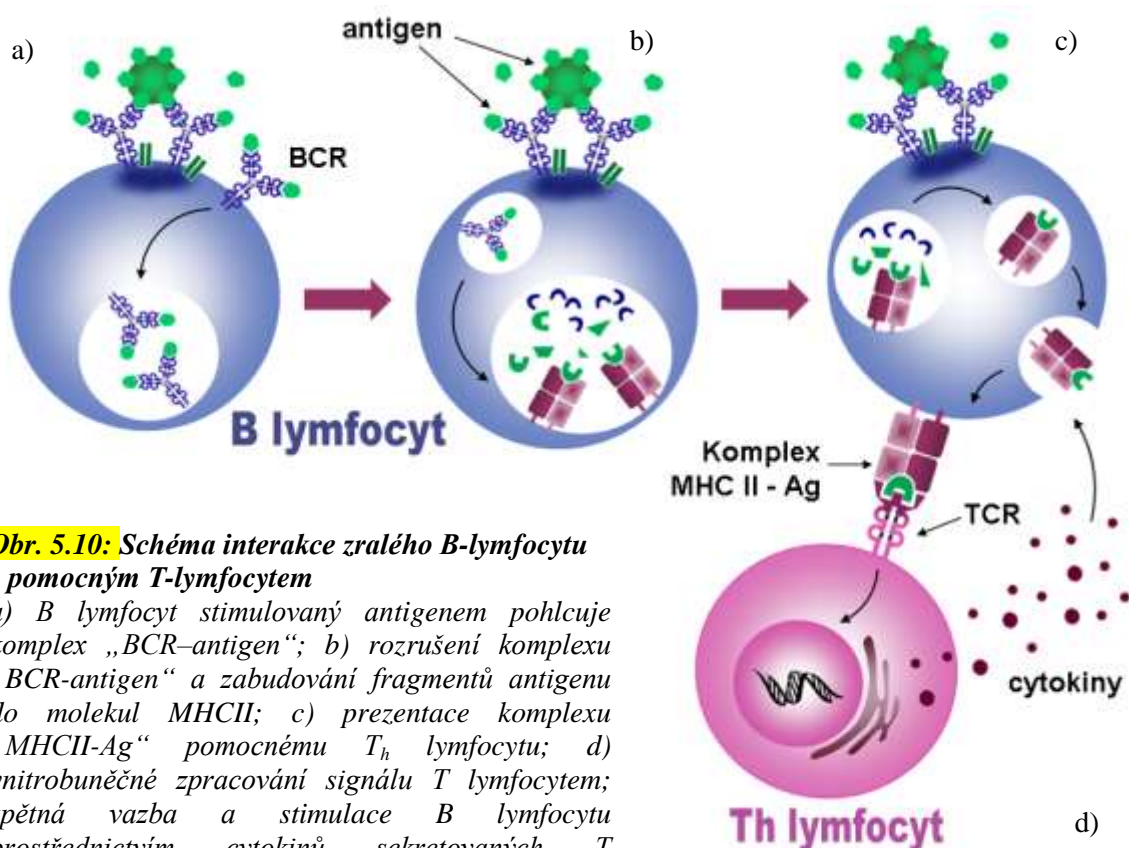
5.4.3. Stimulace B lymfocytu za účasti T_h lymfocytu a sekrece vysoce afinitních Ig „na T lymfocytech závislých“

Polarizace buňky a sekrece imunoglobulinů však není jedinou odezvou B lymfocytu na stimulaci antigenem. Vazba antigenu na BCR zralého lymfocytu souběžně iniciuje celý sled dalších reakcí, které vedou ke spolupráci B a T_h lymfocytů a k **sekreci vysoce afinitních protilátek na T_h závislých**. Na počátku celého procesu je prezentace antigenu B lymfocitem pomocnému T_h lymfocytu - obr. 5.10 (proces je analogický s prezentací antigenů profesionálními fagocyty).

Takto stimulované T_h lymfocyty následně prostřednictvím cytokinů modifikují aktivitu B lymfocytu v závislosti na typu prezentovaného antigenu: stimulují B lymfocyt k intenzivnější proliferaci, během které dochází k **somatické hypermutaci**¹⁵ a selekci klonů B lymfocytů s největší afinitou ke konkrétnímu antigenu. Zároveň dochází k tzv. **izotypovému přesmyku**, kdy se mění konstantní oblast Ig a dochází ke změně izotypu Ig (změna typu těžkého řetězce) – **více kap. Imunogenetika**. Tento proces dává vznik vysoce afinitním protilátkám závislým na T lymfocytech (tzv. T závislé Ig).

Stimulace antigeny závislými na T lymfocytech probíhá v různých částech sekundárních lymfatických orgánů (lymfatické uzliny, Peyerovy plaky střevní sliznice, slezina aj.). Všechny tyto orgány obsahují jak oblasti s vysokou koncentrací T lymfocytů (T-zóny), tak oblasti, kde se soustřeďují B lymfocyty (B-zóny, tzv. lymfoidní folikuly). Proces aktivace Ig na T závislých má dvě fáze (primární a sekundární), vyžaduje interakci nejen B a T_h lymfocytů, ale také dendritických buněk, a jeho výsledkem je produkce vysoce afinitních protilátek a paměťových buněk:

¹⁵ proces drobných změn v DNA kódující variabilní vazebné místo BCR pro antigen a tím dosažení vyšší afinity k danému antigenu



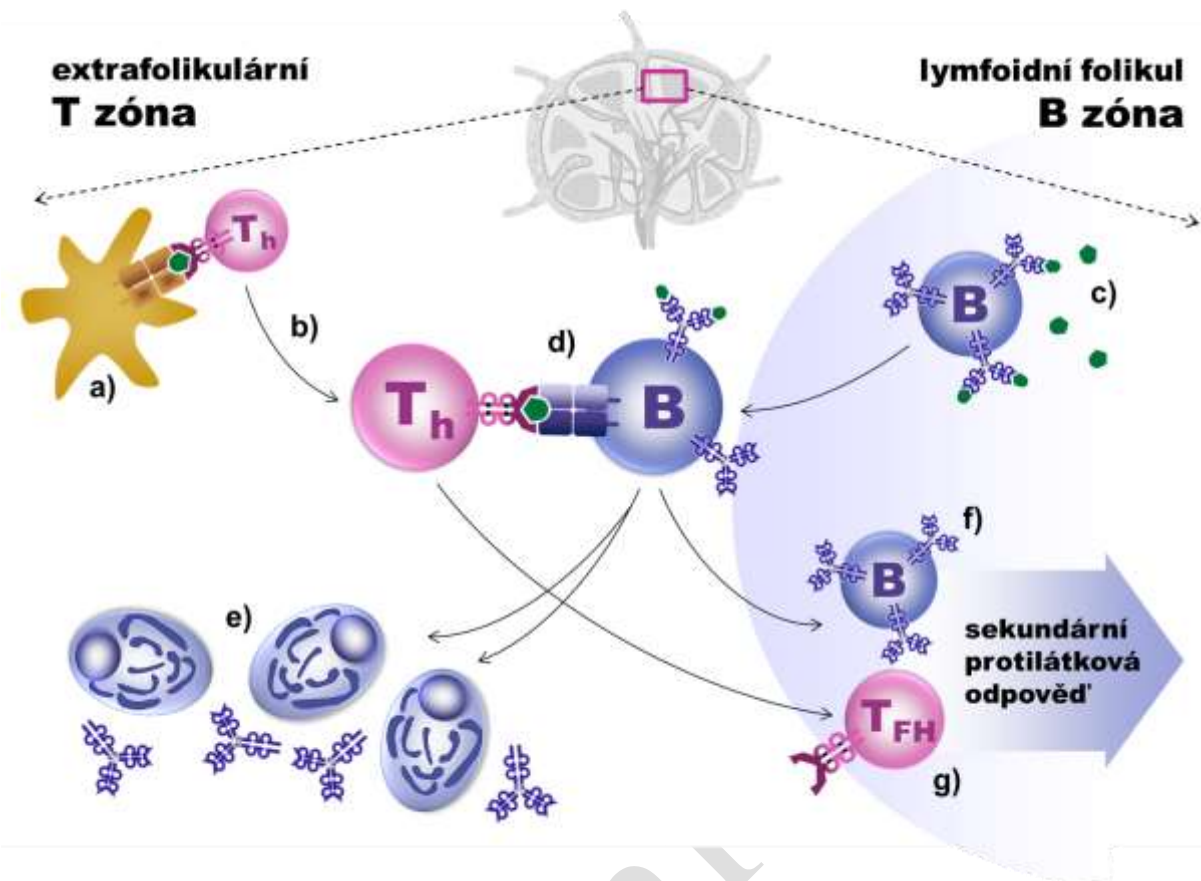
Obr. 5.10: Schéma interakce zralého B-lymfocyta s pomocným T-lymfocytem

a) B lymfocyt stimulovaný antigenem pohlcuje komplex „BCR–antigen“; b) rozrušení komplexu „BCR–antigen“ a zabudování fragmentů antigenu do molekul MHCII; c) prezentace komplexu „MHCII–Ag“ pomocnému T_h lymfocytu; d) vnitrobuněčné zpracování signálu T lymfocytem; zpětná vazba a stimulace B lymfocyta prostřednictvím cytokinů sekretovaných T lymfocytem (více kap. T lymfocyty).

PRIMÁRNÍ FÁZE protilátkové reakce závislé na T lymfocytech probíhá v lymfatických uzlinách na rozhraní T-zóny a primárního folikulu (B-zóny), při prvním setkání obou typů lymfocytů s příslušným antigenem. Zahrnuje následující kroky (obr. 5.11):

- Dendritická buňka pohltí antigen a v T-zóně ho prezentuje naivnímu T_h lymfocytu
- Aktivovaný T_h lymfocyt je prostřednictvím chemokinů přitahován směrem k hranici B-zóny (lymfoidního folikulu)
- Současně je v B-zóně naivní B lymfocyt aktivován antigenem buď volným, nebo prezentovaným některou antigen prezentující buňkou. Takto aktivovaný B lymfocyt prezentuje fragment antigenu na svém povrchu (obr. 5.10c,d) a je přitahován směrem k okraji folikulu (vstříc aktivovanému T lymfocytu)
- Na rozhraní T a B zóny dochází ke kontaktu B a T lymfocytů aktivovaných stejným antigenem. B lymfocyt prezentuje Ag T_h lymfocytu a ten stimuluje proliferaci B lymfocyta, doprovázenou tzv. izotypovým přesmykem¹⁶.
- Takto aktivovaný B lymfocyt se extrafolikulárně dělí. Dává tak vzniku menšímu množství plazmatických buněk. Ty ani jimi sekretované protilátky nemají ale dlouhou životnost.
- Některé vzniklé plazmatické buňky, jsou ale chemotakticky **přitahovány do zárodečného centra** lymfatických uzlin, kde mohou pokračovat ve vývoji **v sekundární fázi protilátkové odpovědi**.
- Zároveň některé aktivované T_h lymfocyty diferencují do populace folikulárních pomocných T lymfocytů (T_{FH}), které také migrují do **zárodečného centra** uzlin, kde **pokračují v sekundární fázi protilátkové odpovědi** (obr. 5.12)

¹⁶ proces přestavby konstantních částí těžkého řetězce protilátky a tím vytvoření příslušného vysoce afinitního izotopu protilátky v závislosti na typu antigenu



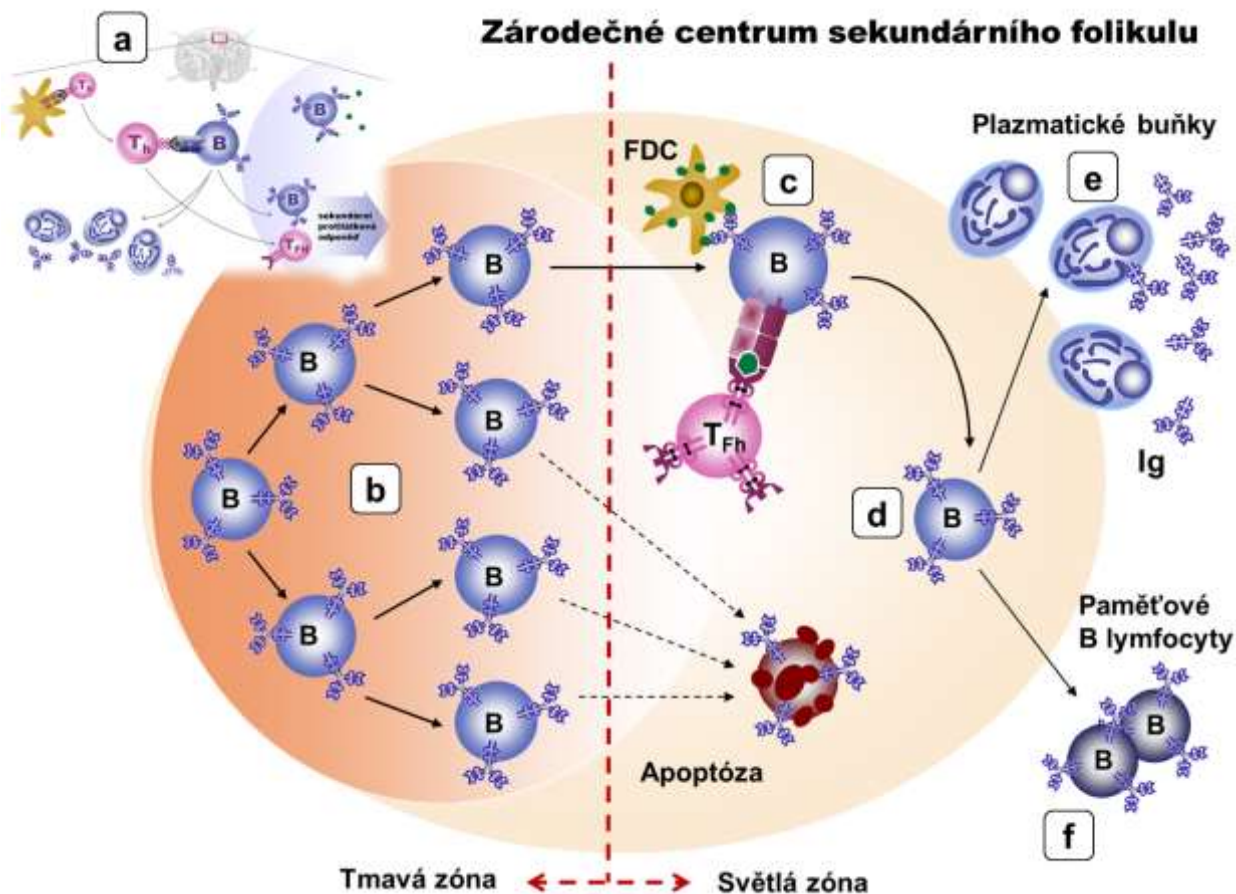
Obr. 5.11: Primární, extrafolikulární fáze protilátkové reakce na T lymfocytech závislé

V T zóně jsou prostřednictvím DC stimulovány Th lymfocyty (a,b). Současně jsou v B zóně aktivovány B lymfocyty (c). Stimulované T i B lymfocyty jsou přitahovány prostřednictvím chemokinů k okraji folikulů, kde B lymfocyt prezentuje pomocnému Th lymfocytu Ag (d). Aktivovaný B lymfocyt proliferuje a prochází v omezené míře izotypovým přesmykem za vzniku extrafolikulárních plazmatických buněk a protilátek krátké životnosti (e). Část aktivovaných B lymfocytů putuje do folikulu, kde formuje sekundární zárodečné centrum (f). Aktivovaný extrafolikulární Th lymfocyt také vstupuje do zárodečného centra, a mění se ve specializované folikulární T_{FH} lymfocyty (g).

SEKUNDÁRNÍ (POZDNÍ) FÁZE protilátkové reakce závislé na T lymfocytech probíhá v zárodečných centrech sekundárních lymfoidních folikulů (obr. 5.12)

Zárodečná centra jsou tvořena proliferujícími B lymfocyty, které byly v primární extrafolikulární fázi aktivovány T_h lymfocyty. Aktivované B lymfocyty se v zárodečném centru diferencují v tzv. **centroblasty**, u kterých během intenzivního dělení probíhá jak **izotypový přesmyk**, tak proces tzv. **somatické hypermutace** genů kódujících variabilní oblast BCR. Oblast intenzivní proliferace B lymfocytů se díky vysoké koncentraci centroblastů jeví tmavě a je proto označována jako „**tmavá zóna**“. Z ní migrují diferencované B lymfocyty do „**světlé zóny**“, kde se zároveň nacházejí **folikulární dendritické buňky (FDC)** a **folikulární T_h lymfocyty (T_{FH})**. Jak FDC tak T_{FH} prezentují na svém povrchu antigeny, které jsou diferencovanými B lymfocyty rozpoznávány. Přitom jsou **selekcí tlakem upřednostňovány ty nově vzniklé varianty B lymfocytů, které mají největší afinitu k antigenu**, rozpoznávaného na folikulárních dendritických buňkách (FDC) a současně prezentovaného folikulárními T_{FH} lymfocyty. B-lymfocyty procházejí opakovanými cykly proliferace, mutace a selekce. V těchto následných cyklech dále dochází opět k **izotypovému přesmyku**, kdy se místo původních IgM, v závislosti na charakteru stimulačního antigenu a cytokinového prostředí, mění třída imunoglobulinu (na IgA, IgE, popř. IgG). Nakonec buňky

úspěšně produkující vysoce afinitní imunoglobuliny diferencují v plazmatické buňky, a část z nich se diferencuje na dlouhodobé paměťové buňky, které opouštějí zárodečné centrum a migrují do kostní dřeně. Ty z centroblastů, které mají slabou nebo žádnou afinitu k danému antigenu, jsou odsouzeny k řízené buněčné smrti – apoptóze.



Obr. 5.12: Sekundární fáze protilátkové reakce v zárodečném centru sekundárního folikulu lymfatické uzliny:

V první tzv. extrafolikulární fázi prezentují aktivované B lymfocyty antigen pomocným T_h lymfocytům, které zpětně u B lymfocytů stimulují proliferaci a izotypový přesmyk (a). Část takto stimulovaných T_h lymfocytů migruje do zárodečného centra lymfatických folikulů, kde představují specifickou skupinu folikulárních T_{Fh}. Podobně i aktivované B lymfocyty migrují do zárodečného centra, kde v tmavé zóně probíhá jejich intenzivní proliferace doprovázená izotypovým přesmykem a somatickou hypermutací (b). Takto vzniklé centroblasty putují do světlé zóny, kde jsou z nich selektovány – pomocí vazby s FDC a T_{Fh} (c) B lymfocyty s nejvyšší afinitou k danému antigenu (d). Tímto procesem vznikají klonální expanzi plazmatické buňky produkující vysoce afinitní na T lymfocytech závislé protilátky (e) a dlouhodobě žijící paměťové B lymfocyty (f).